

Universidade de Lisboa

Faculdade de Farmácia



Imunoterapia e Cancro

Susana Maria Sequeira Lopes da Fonseca Reforço

Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas

2019

Universidade de Lisboa

Faculdade de Farmácia



Imunoterapia e Cancro

Susana Maria Sequeira Lopes da Fonseca Reforço

Monografia de Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas

Apresentada à Universidade de Lisboa através da Faculdade de Farmácia

Orientador: Doutora Maria Henriques Lourenço Ribeiro, Professora Associada

2019

AGRADECIMENTOS

Na realização desta monografia contei com o apoio, mais ou menos interventivo, de diversas pessoas a quem não posso deixar de agradecer.

À minha orientadora, Professora Doutora Maria Henriques Lourenço Ribeiro, por aceitar orientar-me, pela disponibilidade e paciência com que o fez e pelas críticas construtivas e sugestões pertinentes que facilitaram este processo e permitiram concluir esta monografia.

Ao Professor Doutor Rogério Gaspar, ao Professor Doutor Bruno Sepodes e ao Professor Doutor João Rocha, cujas aulas lecionadas nas unidades curriculares de Farmacoterapia em Oncologia e Imunofarmacologia me permitiram adquirir muitos dos conhecimentos base aplicados na realização desta monografia e despertaram o meu interesse para esta área da terapêutica.

Aos meus pais, pelo apoio incondicional que sempre me deram em todas as etapas da minha vida, sem eles nada teria sido possível, ao meu marido pelo apoio, a paciência e a disponibilidade para as muitas questões informáticas que teve que solucionar e às minhas filhas, por serem a minha fonte de inspiração e o meu foco para fazer sempre mais e melhor.

E a todos aqueles que de alguma forma contribuíram para a minha formação pessoal e académica, ao longo destes mais de 40 anos de vida, e me ajudaram a ser quilo que hoje sou.

“Sou um pouco de todos que conheci, um pouco dos lugares que fui, um pouco das saudades que deixei e sou muito das coisas que gostei.”

Antoine de Saint-Exupéry

RESUMO

O cancro é uma doença proliferativa com uma forte componente genética, na medida em que resulta da ocorrência de mutações nas células que se tornam incapazes de controlar os processos de crescimento, desenvolvimento, diferenciação, reparação, divisão e morte celular dividindo-se indefinidamente, acumulando-se e formando tumores que para além de impedirem o funcionamento adequado dos tecidos onde se formam podem ainda metastizar e atingir outros órgãos.

Desde sempre a medicina procurou combater e controlar esta doença e muitas foram as alternativas terapêuticas que surgiram ao longo dos anos, mas só muito raramente estas terapêuticas conseguiram o seu objetivo principal: a cura dos doentes e a manutenção da sua qualidade de vida.

O facto das células cancerígenas serem muito semelhantes às células normais, dá-lhes a capacidade de ludibriar os sistemas de defesa, usando-os muitas vezes para continuar a proliferar.

Nos últimos anos, no entanto, surgiu um conjunto de terapêuticas cujo denominador comum é dotar o sistema imunitário de meios que lhe permitam não só combater as células tumorais como fazê-lo sem agredir, ou agredindo o menos possível, as células normais.

A imunoterapia é uma alternativa terapêutica em grande desenvolvimento e ao longo deste trabalho penso ter abordado as diferentes classes de medicamentos de imunoterapia, o seu modo de ação e as indicações terapêuticas, assim como os fármacos que se encontram disponíveis para cada uma destas indicações.

Foi possível verificar que mesmo as classes mais antigas como as citocinas, continuam a ser utilizadas, ainda que muitas vezes em associação, e que os grupos mais recentes, os inibidores de Checkpoint e as terapêuticas de transferência celular adotiva têm tido resultados bastante promissores e têm ainda uma enorme margem de progressão.

No final deste trabalho foi possível concluir que nunca estivemos tão próximos de conseguir curar, ou pelo menos manter em remissão o cancro, apesar de existirem ainda muitos desafios para superar como seja alargar a imunoterapia a um maior número de doentes e tipos de cancro, nomeadamente as últimas terapias com células CAR T, que de momento apenas se aplicam aos tumores líquidos e para as quais já há ensaios em tumores sólidos.

Palavras Chave: Cancro; Tratamento do cancro; Imunoterapia

ABSTRACT

Cancer is a proliferative disease with a strong genetic component as it results from mutations in cells that become unable to control the processes of growth, development, differentiation, repair, division and cell death thus dividing indefinitely and forming tumors.

This masses in addition to preventing the proper functioning of the tissues where it's formed, can also metastasize and reach other organs.

Medicine has always tried to fight against and control this disease, and there have been many therapeutic alternatives that have emerged over the years, but only rarely have these therapies achieved their primary goal: healing the sick and maintaining their quality and life.

The fact that cancer cells are very similar to normal cells gives them the ability to deceive the immune system, often using it to continue proliferating.

In recent years, however, a range of therapies have emerged, the common denominator of which is to provide the immune system with the means to not only fight the tumor cells but to do so without harming, or as little as possible, the normal cells.

Immunotherapy is a therapeutic alternative in great development and throughout this work I think I have addressed the different classes of immunotherapy drugs, their mode of action and therapeutic indications, as well as the drugs that are available for each of these indications.

Even older classes such as cytokines continue to be used, even though most of the times in association with others. And the newer groups, Checkpoint inhibitors, and adoptive cell transfer therapies have had very promising results and still a huge margin of progression.

At the end of this paper it was concluded that we have never been so close to healing, or at least keeping cancer in remission, although there are still many challenges to overcome with extending immunotherapy to a larger number of cancer patients and other types of tumors. For example, the latest CAR T cell therapies, which currently only apply to liquid tumors and for which clinical trials on solid tumors are already ongoing.

Key Words: Cancer; Cancer treatment; Immunotherapy

INDICE

Índice Geral

AGRADECIMENTOS.....	3
RESUMO.....	4
ABSTRACT.....	5
INDICE	6
I. INTRODUÇÃO.....	8
Cancro – O que é, como se desenvolve e como se propaga.....	8
Epidemiologia do cancro	10
Como tratar o cancro.....	12
II. OBJETIVOS.....	16
III. METODOLOGIA.....	17
IV. IMUNOTERAPIA NO TRATAMENTO DO CANCRO.....	18
1. Imunoterapia e o sistema imunitário.....	18
2. Imunoterapia no tratamento do cancro.....	20
3. Diferentes classes de medicamentos de Imunoterapia	21
3.1. Anticorpos monoclonais (mAb).....	21
3.2. Citocinas.....	24
3.3. Transferência celular adotiva.....	26
3.4. Inibidores de checkpoint	30
3.5. Vacinas.....	32
3.6. Imunoterapia com vírus oncolíticos.....	33
3.7. Terapêuticas combinadas.....	34
V. CONCLUSÕES E DEASFIOS PAR O FUTURO.....	36
BIBLIOGRAFIA	37

Índice de Figuras

Fig.1: Propagação de células normais vs células	8
Fig.2: Formação de metástases	9
Fig.3: Número de novos casos de cancro em Portugal, 2018 (ambos os sexos e todas as idades)	11
Fig.4: Taxas de incidência, por grupo etário, para todos os cancros combinados (2016)	12
Fig.5: Tipos de tratamento para o cancro	12
Fig. 6: Tipos de resposta imunitária	19
Fig. 7: IFN- α 2 Funções	25
Fig. 8: IL-2 Funções	26
Fig. 9: Tratamento com Tumor-Infiltrating Lymphocyte (TIL)	27
Fig. 10: Tratamento com TCR T-Cell	28
Fig. 11: Tratamento com células CAR T	29
Fig. 12: Inibidores do CTLA-4	30
Fig. 13: Inibidores do PD-1/PD-L1	31
Fig. 14: Vacina de células dendríticas (Sipuleucel T) – Produção e tratamento	33
Fig. 15: Terapia com vírus oncolíticos	34

Índice de Tabelas

Tabela 1: Tipos de tumores e sua origem	9
Tabela 2: Estatística do cancro em Portugal (Sumário) 2018	11

I. INTRODUÇÃO

Cancro – O que é, como se desenvolve e como se propaga

Chamamos cancro a um conjunto de doenças que têm em comum o crescimento e proliferação descontrolado de células que adquiriram mutações e, por esse motivo, têm a capacidade de se dividir indefinidamente e de não sofrer apoptose, invadindo os tecidos vizinhos e utilizando o sistema sanguíneo e linfático para se propagarem para outras partes do corpo onde formam metástases.⁽¹⁻³⁾

No corpo humano existem inúmeras células, à medida que estas células envelhecem ou quando ficam danificadas e incapazes de desempenhar as suas funções, morrem e são substituídas por células novas que se vão formando. A divisão celular é um processo altamente controlado, mas por vezes os mecanismos de controlo deixam de funcionar e o material genético da célula altera-se adquirindo mutações que afetam o crescimento, a divisão e a morte celular, levando a que algumas células cresçam e se dividam descontroladamente enquanto outras, que deveriam morrer, não morrem (Fig.1). Formam-se assim massas de células que não desempenham as suas funções ou não as desempenham corretamente - tumores.⁽¹⁻³⁾

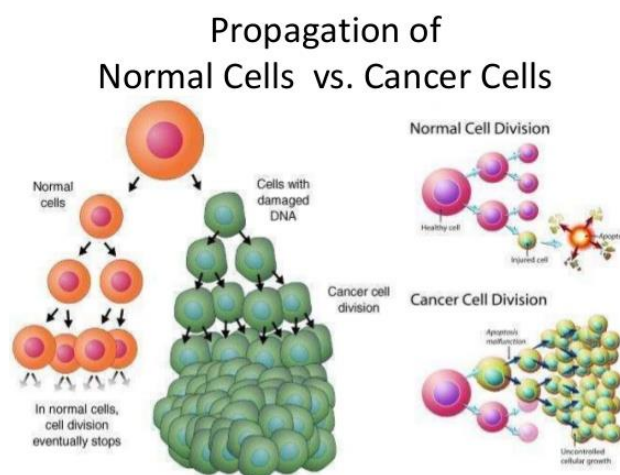


Fig.1: Propagação de células normais vs células cancerígenas ⁽⁴⁾

A divisão acelerada de células e a sua proliferação não é sempre patológica, por exemplo, durante o ciclo menstrual ocorre a proliferação do endométrio, uma hiperplasia fisiológica, uma vez que as células que resultam desta proliferação mantêm a aparência e estrutura normal e os tecidos mantêm a sua organização. Algumas hiperplasias podem ter causas patológicas (por exemplo a inflamação crónica) e, apesar de não serem cancro, devem ser monitorizadas pois podem evoluir para cancro.⁽¹⁾

Quando as células resultantes de uma proliferação fora do normal se começam a acumular ou a apresentar alterações no seu aspeto ou se os tecidos se tornarem desorganizados, passamos a denominar estas alterações de displasia, uma situação que é tanto mais complexa quanto maior for a alteração de aspeto das células face às células normais e quanto mais desorganizados estiverem os tecidos. Nestes casos o mais provável é que estas alterações evoluam para cancro, por exemplo os sinais da pele que podem evoluir para melanoma.⁽¹⁾

Quando os tumores são malignos, têm a capacidade de invadir os tecidos vizinhos e as células crescem a um ritmo acelerado e descontroladamente, podendo algumas separarem-se da massa original e, através do sistema sanguíneo ou linfático, espalharem-se para formar novos tumores – metástases (Fig.2). Os benignos, apesar de, normalmente, não invadirem os tecidos vizinhos nem proliferarem para outros órgãos, podem ser perigosos quer pela sua localização quer pelas suas dimensões pois, nalguns casos, comprometem o funcionamento dos órgãos onde se desenvolvem e, por esse motivo são, sempre que possível, removidos não voltando a aparecer. ^(1,3)

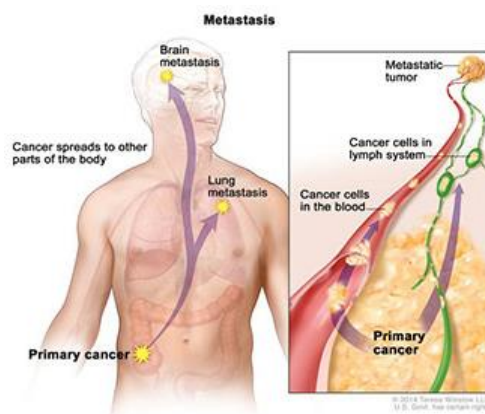


Fig.2: Formação de metástases ⁽¹⁾

O processo pelo qual uma célula normal se transforma numa célula cancerígena denomina-se carcinogénese e não é algo que ocorra de imediato, há numerosos genes envolvidos, em processos celulares de crescimento, desenvolvimento, diferenciação, reparação, divisão, sobrevivência ou morte, que podem sofrer mutações deixando de ser capazes de controlar esses processos. Como consequência, as células danificadas, velhas ou anormais que deveriam ser eliminadas sobrevivem e/ou novas células formam-se sem que sejam necessárias, dividindo-se indefinidamente, acumulando-se e formando tumores.

A maior parte dos tumores têm origem nas células epiteliais, mas qualquer célula pode dar origem a um tumor. ⁽²⁾

Tabela 1: Tipos de tumores e sua origem

Tumor	Origem
Carcinomas	Células epiteliais
Cancros hematológicos (leucemias, linfomas e mielomas)	Células do sangue (a maioria com origem nos GB)
Sarcomas	Células de tecidos de suporte (osso, cartilagem, gordura, músculo, vasos ou outros tecidos conjuntivos)
Melanomas	células da pele (melanócitos)
Tumores do SNC (Ex: glioblastomas)	Células do cérebro e espinal medula

O cancro, enquanto estadio mais grave da proliferação celular tem início na forma de carcinoma *in situ*, em que as células malignas estão confinadas a um tecido, sem se

espalharem aos tecidos vizinhos mas, se não for tratado, o mais provável é que se espalhe, não só aos tecidos vizinhos, mas também a órgãos distantes. ⁽¹⁾

As células cancerígenas são menos especializadas que as células normais e por isso são capazes de ignorar os sinais de controlo da divisão celular e de início de apoptose, o que permite que se dividam indefinidamente. Estas células conseguem também induzir a formação de novos vasos sanguíneos que vão fornecer oxigénio e nutrientes ao tumor suportando assim o seu crescimento e, em alguns casos, conseguem evitar o sistema imunológico ou mesmo usá-lo para se manterem vivas e crescerem.

As alterações que se observam nas células cancerígenas são o resultado de alterações da sua informação genética, pelo que podemos dizer que o cancro é causado por alterações nos genes que podem ser herdadas ou adquiridas ao longo da vida, devido a erros na divisão celular ou danos no ADN devido a fatores ambientais aos quais as células são expostas. ⁽³⁾

Existem cerca de 25.000 genes em cada célula humana, mas, na maioria dos casos uma mutação num gene não conduz ao desenvolvimento de cancro. Isso só acontece quando a mutação ocorre em certo tipo de genes, relacionados com o desenvolvimento de cancro:

- os **proto-oncogenes**, são genes promotores do crescimento, que normalmente dão informação à célula de quando crescer e se dividir. Podem estar ativos ou inativos consoante a necessidade de crescimento celular, mas quando sofrem mutações transformam-se em oncogenes, que estão permanentemente ativos, e as células crescem sem controlo,
- os **genes supressores de tumores**, inibem o crescimento e são responsáveis por manter a célula no estado de “não divisão”. Se sofrerem mutações e passarem a estar no estado inativo, a célula mantém-se em “permanente divisão”,
- os **genes de reparação de ADN**, cuja função é reparar os danos que ocorrem no ADN. Quando estes genes se encontram mutados, não são capazes de reparar as alterações que ocorrem nos oncogenes e nos genes supressores de tumores. ⁽³⁾

Em resumo, células com mutações nestes genes crescem e dividem-se de forma incontrolável, são incapazes de reparar o ADN e as mutações tornam-se frequentes. Compreender as bases moleculares do cancro permite identificar certas mutações que são comuns em determinados tipos de cancro para os quais a caracterização passa a ser feita não só pela forma como se desenvolve e a histologia das células, mas também pelas mutações genéticas subjacentes. Adicionalmente, o conhecimento das alterações genéticas associadas ao cancro permite um direcionamento mais eficaz da terapêutica a utilizar.

Epidemiologia do cancro

Em Portugal, as doenças oncológicas são a segunda causa de morte e a que mais aumentou nos últimos anos. ⁽⁴⁾ Segundo a *International Agency for Research on Cancer*, um quarto da população Portuguesa está em risco de desenvolver cancro até aos 75 anos e 10% corre risco de morrer de doença oncológica. ⁽⁵⁾ Para este facto, certamente, contribuiu o envelhecimento da população (dados de 2017, do INE referem que “um milhão de portugueses tem mais de 75 anos”), assim como as alterações no estilo de vida. ⁽⁴⁾

Dados da *International Agency for Research on Cancer*, para Portugal, indicam, que em 2018, ocorreram 58199 novos casos de cancro (CF. Fig.3)

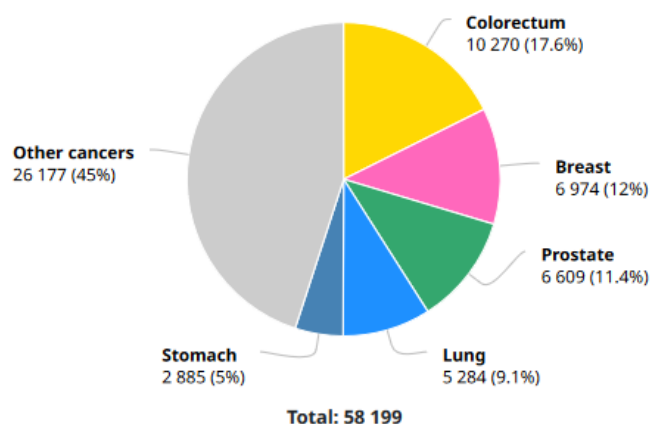


Fig.3: Número de novos casos de cancro em Portugal em 2018 (ambos os sexos e todas as idades)⁽⁵⁾

Tabela 2: Estatística do cancro em Portugal (Sumário) 2018⁽⁵⁾

	Males	Females	Both sexes
Population	4 871 173	5 420 025	10 291 198
Number of new cancer cases	32 475	25 724	58 199
Age-standardized incidence rate (World)	312.1	218.4	259.5
Risk of developing cancer before the age of 75 years (%)	30.8	20.9	25.6
Number of cancer deaths	17 607	11 353	28 960
Age-standardized mortality rate (World)	147.4	68.7	103.6
Risk of dying from cancer before the age of 75 years (%)	14.7	6.9	10.6
5-year prevalent cases	79 608	76 037	155 645
Top 5 most frequent cancers excluding non-melanoma skin cancer (ranked by cases)	Prostate Colorectum Lung Bladder Stomach	Breast Colorectum Thyroid Lung Stomach	Colorectum Breast Prostate Lung Stomach

O cancro ocorre com mais frequência a partir dos 40 anos de idade (Fig.4), no entanto, pode surgir em qualquer idade incluindo nos jovens e crianças onde certos tipos de cancro são específicos (ex. a leucemia linfoblástica aguda e o neuroblastoma).

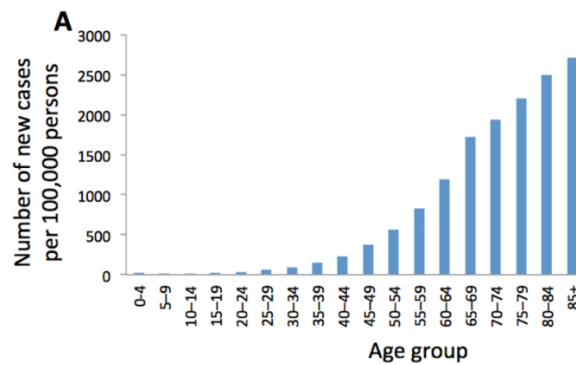


Fig.4: Taxas de incidência, por grupo etário, para todos os cânceres combinados (2016) ⁽⁶⁾

O aumento do sucesso dos tratamentos, com o surgimento de novas terapêuticas e de novas moléculas, e o diagnóstico precoce contribuíram não só para o aumento de sobrevivência ao câncer, mas também para o aumento de anos em remissão. Também a maior diversidade de meios disponíveis para terapêutica paliativa permite controlar com maior eficácia a maioria dos sintomas nos doentes para os quais a cura não é possível, melhorando a sua qualidade de vida.

Como tratar o câncer

Existem vários tratamentos para o câncer, o tipo de tratamento depende do tipo de câncer e do quão avançado está. Alguns doentes fazem apenas um tratamento, mas a maioria faz uma combinação de vários tratamentos. ^(1,4)

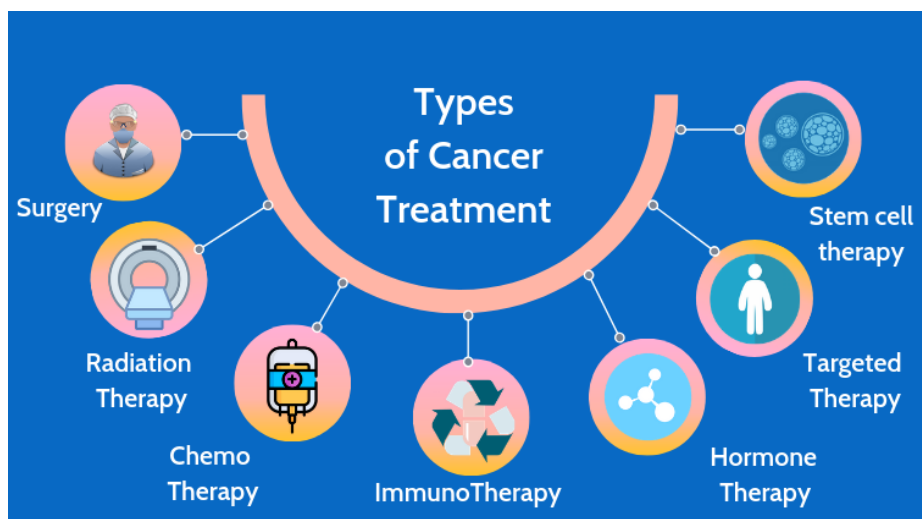


Fig.5: Tipos de tratamento para o câncer ⁽⁷⁾

- **Cirurgia**

Consiste na remoção do tumor. É um tratamento local, utilizado em tumores sólidos contidos numa determinada área, permitindo a remoção dos tecidos afetados. Não se utiliza para leucemias nem tumores metastizados.

Dependendo do tipo de tumor e do quão avançado ele está, a cirurgia pode ser utilizada para remover a totalidade do tumor, quando este está contido numa área restrita; para remover parte do tumor, quando a remoção total pode danificar algum órgão, reduzindo a dimensão no tumor de forma a potenciar a eficácia dos restantes tratamentos, ou apenas para remover tumores que estão a provocar dor ou a causar pressão nos órgãos adjacentes.

Pode ser o único tratamento necessário, mas na maioria das situações são administrados outros tratamentos adicionais.^(1,7,8)

- **Radioterapia**

Tratamento que usa radiação ionizante em doses elevadas, adequadas ao volume do tumor, de forma a eliminar ou diminuir o crescimento das células tumorais, reduzindo a dimensão do tumor, mas minimizando a dose que vai atingir os tecidos e órgãos adjacentes ao tumor.

A radiação danifica, de forma irreparável, o ADN das células cancerígenas, que deixam de se dividir e/ou morrem sendo eliminadas do organismo. O resultado do tratamento não é imediato, tem que ser feito durante semanas até o ADN estar suficientemente danificado para as células morrerem, e este efeito mantém-se após o fim do tratamento, continuando as células cancerígenas a morrer.

A radioterapia divide-se em 2 grandes tipos (externa e interna) segundo a forma como a radiação é administrada ao doente, e o médico opta por um ou outro dependendo de diversos fatores como o tipo e o tamanho do tumor, a sua localização e a distância a que se encontra de outros tecidos e órgãos do organismo, que também são sensíveis à radiação, e também do estado geral do doente, a sua idade e o seu historial médico.

A radioterapia externa é um tratamento local e a fonte de radiação não toca no doente e na radioterapia interna, a fonte de radiação é colocada no interior do doente muito próxima do tumor.

Se a radioterapia interna for administrada na forma sólida (braquiterapia), trata-se de um tratamento local na medida em que os veículos da radiação apenas se destinam a afetar uma parte específica do organismo, se for administrada na forma líquida é um tratamento é sistémico uma vez que os líquidos percorrem todo o organismo através da corrente sanguínea.^(1,7,8)

- **Quimioterapia**

Tratamento em que se utilizam fármacos para eliminar as células cancerígenas ou reduzir a sua capacidade de se multiplicarem, para reduzir a probabilidade do cancro regressar, em doentes que se encontram em remissão e também para reduzir o tamanho de tumores que provoquem dor ou cujo tamanho dificulte outros tratamentos, como a cirurgia, por exemplo. Pode ser o único tratamento (um só medicamento ou uma associação) ou em combinação com outros medicamentos (imunoterapia e/ou terapêutica hormonal de substituição) ou tratamentos (por. exemplo a radioterapia e a cirurgia).

O esquema terapêutico utilizado depende do doente, da sua idade, do seu estado geral e do seu historial médico, do tipo de tumor e da sua localização e estágio de desenvolvimento e a via de administração depende do medicamento usado, podendo fazer-se de diferentes formas: por via oral, endovenosa, intramuscular, subcutânea, recorrendo a bombas infusoras ou até ser administrada diretamente no tumor.

A quimioterapia é um tratamento sistémico e não seletivo, na medida em que o medicamento vai acabar por entrar na corrente sanguínea, independentemente da via de

administração, e não atua apenas sobre as células tumorais, afetando também as células saudáveis, o que causa vários efeitos secundários (a maioria temporários e reversíveis com o final do tratamento).^(1,7,8)

- **Imunoterapia**

É um tipo de tratamento que ajuda o sistema imunitário a combater o cancro. Apesar de ter aprovação para utilização em diversos tipos de cânceros, a imunoterapia ainda não é tão utilizada como a cirurgia, a radioterapia e a quimioterapia.

A imunoterapia no tratamento do cancro é o ponto central desta monografia e por esse motivo será mais desenvolvida nos próximos capítulos.^(1,7,8)

- **Terapêutica dirigida**

Tem como alvo as alterações que ocorrem nas células tumorais que lhes permite crescer, dividir e proliferar. Na maioria dos casos este tipo de terapêutica é feito com pequenas moléculas, que se utilizam em situações em que os locais alvo se encontram no interior das células uma vez que as suas dimensões permitem que entrem facilmente dentro das células, ou anticorpos monoclonais, que se ligam a alvos específicos das células cancerígenas.

A terapêutica dirigida atua de diversas formas consoante a substância e/ou o tumor em questão, sinalizando a presença das células cancerígenas para que estas sejam mais facilmente identificadas e destruídas pelo sistema imunitário, interferindo diretamente com o crescimento e multiplicação celular, bloqueando os recetores de sinal para divisão celular ou impedindo a formação de novos vasos sanguíneos que irriguem o tumor, servindo de veículo a substâncias tóxicas para as células cancerígenas destruindo-as sem afetar as células saudáveis, causando a autodestruição das células cancerígenas ou privando-as das hormonas que necessitam para crescer, impedindo a produção de determinadas hormonas ou evitando que essas hormonas atuem.^(1,7,8)

- **Terapêutica hormonal**

Utiliza-se em tumores cujo crescimento celular é estimulado por hormonas, como o cancro da mama e da próstata, de forma a diminuir ou parar o crescimento e multiplicação destas células. Este tratamento pode ser usado para tratar o cancro, uma vez que para ou diminui o crescimento do cancro e diminui a probabilidade de este recidivar, no caso do cancro da mama, ou para reduzir ou prevenir sintomas, no caso do cancro da próstata em homens que não podem fazer cirurgia ou radioterapia.

Na maioria das vezes, a terapêutica hormonal é utilizada em conjunto com outros tratamentos, dependendo do tipo de cancro, da sua propagação, podendo atuar de duas formas distintas, impedindo a produção de hormonas ou interferindo na forma como as hormonas atuam. Pode ser administrada antes da cirurgia ou da radioterapia, com o objetivo de reduzir o tamanho do tumor (terapêutica neoadjuvante), após o tratamento principal para diminuir o risco do cancro recidivar (terapêutica adjuvante) ou para destruir as células cancerígenas que reapareçam ou se espalhem a outras partes do corpo.^(1,7,8)

- **Transplante de células estaminais**

Procedimento que repõe as células estaminais formadoras de células sanguíneas em doentes que foram submetidos a elevadas doses de quimioterapia ou radioterapia, o que levou à destruição das células sanguíneas, que necessitam ser repostas.

Num transplante de células estaminais são administradas células formadoras de células sanguíneas saudáveis por injeção intravenosa, que vão chegar à medula óssea através da circulação sanguínea para substituir as células que foram destruídas no tratamento.

As células usadas nestes transplantes provêm da medula óssea, da corrente sanguínea ou do cordão umbilical do doente (transplante autólogo) ou de um dador compatível, que pode ser familiar do doente ou não (transplante alogénico).

Este tipo de tratamento não tem como função atuar diretamente sobre as células cancerígenas, mas sim ajudar na recuperação da produção de células estaminais após tratamentos que as destroem. No entanto, no mieloma múltiplo e em certos tipos de leucemias o transplante pode atuar diretamente sobre as células cancerígenas na medida em que os glóbulos brancos do dador podem atacar as células cancerígenas remanescentes, o que aumenta as possibilidades de sucesso do tratamento. ^(1,7,8)

- **Medicina de precisão**

Também denominada medicina personalizada, permite que os médicos selecionem o tratamento mais indicado para os doentes baseado no conhecimento da genética da sua doença.

Atualmente, após um diagnóstico de cancro, o doente recebe uma combinação de tratamentos standard, que dependem do tipo de tumor, da sua localização, do tamanho, se está o não disseminado, mas que é semelhante ao de outros doentes com os mesmos tipos de cancro no mesmo estadio. No entanto, diferentes doentes respondem de formas diferentes e atualmente sabemos que estas diferenças se devem a alterações genéticas que ocorrem no tumor de um doente e que podem não ocorrer noutro doente com o mesmo tipo de tumor. Com o recurso à medicina personalizada, a informação acerca das alterações genéticas do tumor (obtidas por sequenciação de ADN, testes genómicos, etc) permite uma melhor tomada de decisão acerca do tratamento que melhor funcionará naquele doente. ^(1,7,8)

II. OBJETIVOS

O objetivo desta monografia é reunir a informação existente relativa à utilização da imunoterapia no tratamento do cancro, analisar a informação, nomeadamente no que diz respeito aos diferentes tipos de tratamento, mecanismos de ação, as suas aplicações nos diferentes tipos de cancro e as perspectivas de evolução desta terapêutica no futuro.

III. METODOLOGIA

Esta monografia foi elaborada com recurso a um suporte documental obtido por pesquisa nas bases de dados online do Pubmed e em páginas de internet de institutos e organizações ligadas ao tratamento e investigação do cancro.

Numa fase inicial, os conceitos pesquisados foram: “cancer”, “cancer treatment”, “immunotherapy”, “immunotherapy and cancer”, o que permitiu obter uma visão abrangente do tema em questão. Posteriormente, e com vista a especificar cada uma das classes de medicamentos utilizados em imunoterapia, utilizaram-se termos de pesquisa mais restritos: “cytokines”, “IL-2”, “interferons” “cell based therapies”, “cancer vaccines”, “adoptive cellular therapy”, “Tumor Infiltrating Lymphocyte”, “TIL”, “CAR-T cell therapy”, “immune checkpoint blockade”, “Anti-CTLA-4”, “Anti-PD-1”, “Anti-PD-L1”.

Estes conceitos foram pesquisados também em português e os critérios de pesquisa incluíram, não só os conceitos mencionados, como também a data de publicação dos artigos, tendo a pesquisa sido limitada aos últimos 10 anos.

A seleção das fontes de informação a utilizar foi feita de acordo com os conteúdos, privilegiando os artigos com o foco principal nos diferentes termos e conceitos pesquisados.

Após a pesquisa, leitura e seleção das diversas fontes de informação, elaborou-se o esquema de trabalho e daí procedeu-se à realização do trabalho propriamente dito.

IV. IMUNOTERAPIA NO TRATAMENTO DO CANCRO

1. Imunoterapia e o sistema imunitário

O sistema imunitário é o conjunto das defesas naturais do nosso corpo. É constituído por um conjunto de órgãos, células e moléculas especiais que ajudam a proteger o corpo contra infeções, cancro e outras doenças. Qualquer substância estranha, que seja identificada pelo sistema imunitário vai desencadear um conjunto de reações a que se chama resposta imunitária, cujo objetivo é defender o organismo. ^(9,10)

Temos dois tipos de imunidade, que caracterizam dois tipos de resposta: a imunidade inata (ou natural), é a primeira linha de defesa do organismo, que nasce com ele, é uma resposta rápida, não específica e limitada aos estímulos estranhos, e a imunidade adquirida (ou adaptativa), é ativada pelo contato com agentes infecciosos e sua resposta à infeção aumenta de intensidade a cada exposição sucessiva ao mesmo agente. ^(9,10)

Fazem parte da imunidade inata, as barreiras físicas e mecânicas (pele, mucosas, membranas e fluidos corporais), que retardam a entrada e/ou impedem a entrada de substâncias estranhas, as barreiras fisiológicas (como a temperatura e a acidez gástrica) que inibem e/ou eliminam o crescimento de microrganismos, barreiras celulares (linfócitos natural killer, neutrófilos, monócitos e macrófagos) que fagocitam partículas e microrganismos estranhos eliminando-os e a barreira inflamatória, reações de inflamação que através de libertação de substâncias químicas atraem células fagocitárias para a área afetada e destroem as substâncias estranhas que aí se encontram. ^(9,10)

A resposta imunitária inata para além de ser a primeira linha de defesa, controlando e prevenindo grande parte de infeções, é também responsável por “assinalar” a presença os microrganismos e outras substâncias estranhas que conseguem ultrapassar as suas barreiras de defesa, acionando os mecanismos de imunidade adquirida. ^(9,10)

Existem dois tipos de imunidade adquirida: a imunidade humoral, que gera uma resposta mediada por moléculas no sangue e nas secreções da mucosa, os anticorpos, produzidos pelos linfócitos B, que são o principal mecanismo de defesa contra microrganismos extracelulares e suas toxinas, pois reconhecem, neutralizam e eliminam os antígenos, controlando a infeção, e a imunidade celular gera uma resposta mediada pelos linfócitos T, que promovem a destruição de microrganismos ou das células infetadas quando os microrganismos intracelulares, sobrevivem e proliferam dentro das células hospedeiras, estando inacessíveis para os anticorpos circulantes, eliminando assim a infeção. ⁽¹⁰⁾

A imunidade adquirida pode ainda ser classificada como ativa, quando é induzida pela exposição a um antígeno através de doença ou vacinas, ou passiva quando, por exemplo, ocorre transferência dos anticorpos da mãe para o feto. ⁽¹⁰⁾

A imunidade mediada por linfócitos B e T caracteriza-se pela especificidade e diversidade, uma vez que o sistema imunológico reconhece milhares de antígenos diferentes e produz uma resposta específica e adequada a cada um deles, e também pela memória imunológica

pois a exposição do sistema imunitário a um determinado antígeno aumenta a sua capacidade de resposta a esse mesmo antígeno num contacto posterior e as células de memória produzidas são capazes de reconhecer o antígeno por muitos anos. São também características importantes a especialização dos linfócitos T e B que se especializam em diferentes classes de microrganismos, o que permite uma resposta por vias distintas maximizando a eficiência dos mecanismos de defesa, a auto tolerância que permite que estas células de defesa reajam contra substâncias estranhas mas não contra as moléculas do organismo e ainda a autolimitação uma vez que estas células produzem moléculas que auxiliam o fim da resposta imunitária, de forma a que esta não se perpetue quando já não é necessária.⁽¹⁰⁾

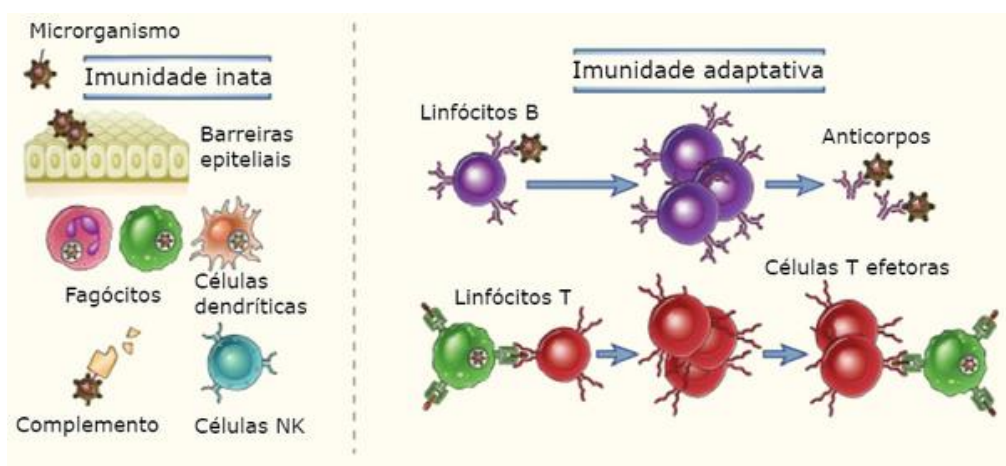


Fig. 6: Tipos de resposta imunitária⁽¹⁰⁾

No caso das células tumorais, apesar de serem células do nosso organismo, são células que se “tornaram” diferentes e, por esse motivo, o sistema imunitário também as ataca, quando as consegue identificar. O que nem sempre é possível pois as células tumorais têm muitas vezes a capacidade de se “disfarçarem” e serem reconhecidas como células normais, ou de se modificarem continuamente impedindo o sistema imunitário de as identificar como sendo “estranhas”, não as atacando, continuando estas a multiplicarem-se e a proliferar.⁽⁸⁾

Noutros casos o próprio sistema imunitário pode estar debilitado e não estar suficientemente forte para travar a proliferação das células tumorais, que se continuam a multiplicar sobrepondo-se assim à capacidade de resposta do sistema imunitário.⁽⁸⁾

Em ambas as situações, é necessário fortalecer o sistema imunitário de forma a que este possa dar uma resposta adequada reconhecendo, matando ou atrasando o crescimento das células tumorais de forma a prevenir a sua propagação a outras partes do organismo. A Imunoterapia atua ajudando o sistema imunitário a tornar-se mais eficiente no combate às células tumorais.

2. Imunoterapia no tratamento do cancro

É um tipo de tratamento que utiliza substâncias muitas vezes retiradas do corpo do doente ou produzidas em laboratório para fortalecer o sistema imunitário de forma a que este possa matar, parar ou atrasar o crescimento das células tumorais, prevenir a propagação das células tumorais a outras partes do organismo. ^(8,11-13)

A aplicação da imunoterapia no tratamento do cancro não é tão recente como se possa pensar, em 1893, William Coley criou uma mistura de bactérias e lisados bacterianos, “Coley’s toxins” com a qual tratou um doente com um tumor inoperável. Após o tratamento o doente entrou em remissão completa. A publicação dos seus trabalhos em 1953 levou à utilização de Bacillus Calmette-Guerin (BCG) no tratamento do cancro da bexiga, nos anos 60, e deu início à imunoterapia no tratamento do cancro. ⁽¹²⁾

Mais tarde, a descoberta e utilização das citocinas nos anos 70-80, com especial destaque para a interleucina 2 “IL-2” e o interferão alfa “IFN- α ”, cujos resultados dos primeiros estudos levaram à aprovação da utilização do IFN- α no tratamento de Leucemia de células pilosas, ainda nos anos 80, e da IL-2 recombinante no tratamento do carcinoma renal metastático (1992) e no melanoma metastático (1998); a produção e utilização de anticorpos monoclonais; os ensaios com linfócitos infiltrantes de tumor; a utilização de inibidores de Checkpoint e de Células T CAR, estes últimos verdadeiras esperanças no tratamento do cancro. ^(12,)

Tendo em consideração os diversos grupos de fármacos, e a forma como atuam, podemos classificar a imunoterapia como ativa ou passiva, consoante a sua capacidade de levar o sistema imunitário dos doentes a reagir contra as células tumorais. Assim, as vacinas e os inibidores de “Checkpoint” são formas de imunoterapia ativa uma vez que atuam estimulando ou restaurando o sistema imunitário levando-o a combater o tumor, ao passo que os anticorpos monoclonais, as citoquinas e a transferência adotiva de células T são consideradas formas de imunoterapia passiva pois têm atividade antineoplásica intrínseca, e são administrados com o objetivo de capacitar o sistema imunológico para responder à doença, compensando funções deficientes ou inexistentes do sistema imunitário. Utiliza-se normalmente em doentes com sistemas imunitários enfraquecidos, que não respondem ou têm uma baixa taxa de resposta. ⁽¹³⁾

A imunoterapia apresenta vários benefícios: é um tratamento sistémico atuando em todo o corpo; é específico uma vez que os tratamentos atacam, ou estimulam o sistema imunitário a atacar, apenas as células tumorais e os seus efeitos podem prolongar-se no tempo, mesmo após a remissão pois o sistema imunitário cria memória das células tumorais mantendo as respostas mesmo após o fim do tratamento. ^(1,8)

No que diz respeito aos efeitos secundários, são menos frequentes do que nas outras terapêuticas do cancro, já que as células saudáveis não são afetadas, e estão geralmente relacionados com a estimulação do sistema imunitário podendo variar de sintomas menores de inflamação (por exemplo febre) até condições mais graves semelhantes a doenças autoimunes. Na maior parte dos casos a intensidade destes efeitos diminui após o primeiro tratamento. ⁽¹⁴⁾

3. Diferentes classes de medicamentos de imunoterapia

3.1. Anticorpos monoclonais (mAb)

Tal como já foi referido, quando no nosso organismo é identificada uma substância estranha desencadeia-se uma resposta imunitária, com produção de anticorpos que entram em circulação e percorrem o organismo até encontrarem as substâncias estranhas que desencadearam a sua produção, ligando-se aos antígenos que estas expressam à sua superfície, com o objetivo de as eliminar.^(8,14,15,48,49)

Os anticorpos monoclonais são proteínas, produzidas em laboratório e modificadas com o objetivo de serem específicas para um determinado tipo de antígeno expresso pelas células tumorais.

Para que se possam produzir estes anticorpos específicos é necessário saber quais os antígenos, ou marcadores, que são expressos pelas células tumorais, o que não é fácil uma vez que as células tumorais são células do organismo que sofreram alterações, que as levaram a malignizar, mas são, em muitos aspetos, semelhantes às células normais, tendo por isso muitos marcadores de superfície em comum.^(8,14,15)

Este facto significa que os anticorpos monoclonais se ligariam e desencadeariam uma resposta de ataque não só contra as células tumorais mas também contra as células normais, pelo que, o ideal será que os anticorpos monoclonais tenham como alvo específico antígenos expressos pelas células tumorais, mas que não são expressos pelas células normais, o que aumentaria a eficácia do tratamento e reduziria os seus efeitos adversos.

Como desencadeiam uma reação do sistema imunitário, os mAb podem desencadear efeitos adversos relacionados com esta estimulação, tais como febre, arrepios de frio, dores de cabeça, fraqueza, náuseas, diarreia, erupções cutâneas e hipotensão no entanto, os efeitos adversos dependem do objetivo do fármaco.

Podemos classificar os mAb, de acordo com as modificações que sofreram em não conjugados ou nus, conjugados ou biespecíficos.^(8,14,15)

3.1.1 Anticorpos monoclonais não conjugados

São aqueles que não sofreram nenhuma alteração, atuam por si próprios sem estarem ligados a qualquer fármaco ou partícula radioativa e são os mais comumente usados no tratamento do cancro.

Podem atuar de diferentes formas:

- Aumentando a resposta imunitária contra as células tumorais, ligando-se e atuando como marcador identificando-as para que o sistema imunitário as reconheça mais facilmente e as destrua.

É o caso do Alemtuzumab, que se liga ao antígeno CD52, um antígeno da superfície celular presente principalmente nos linfócitos T (CD3+) e B (CD19+) desencadeando a citólise celular dependente de anticorpos e lise mediada pelo complemento após a ligação à superfície celular de linfócitos T e B^(16,17), razão pela qual está indicado no tratamento de leucemia linfocítica crónica (LLC)¹.

- Aumentando a resposta imunitária atuando sobre os checkpoints do sistema imunitário, nomeadamente as vias PD-1/PD-L1 e CTLA-4, críticas para o controlo do crescimento do cancro.

É o caso do Nivolumab e do Ipilimumab conforme veremos mais à frente.

- Ligando-se e bloqueando antígenos específicos das células tumorais ou de outras células vizinhas, que ajudam as células tumorais a crescer ou a proliferarem – Terapêutica dirigida.

O Trastuzumab², é um mAb anti HER2, uma proteína que é expressa em grande quantidade à superfície das células de cancro da mama e do estômago e que, quando é ativada, promove o crescimento celular.

O Trastuzumab está indicado no tratamento do cancro da mama HER2 positivo, quer em estádios precoces quer metastizado (em monoterapia ou em associação com quimioterapia ou hormonoterapia) e também no tratamento do cancro gástrico HER2 positivo, pois liga-se com elevada afinidade e especificidade ao subdomínio IV (região justa membrana do domínio extracelular do HER2). Esta ligação inibe a sinalização do HER2 e previne a clivagem proteolítica do seu domínio extracelular, um mecanismo de ativação do HER2. Desta forma o Trastuzumab inibe a proliferação de células tumorais humanas com sobre expressão do HER2⁽¹⁸⁾.

Adicionalmente, o trastuzumab é um mediador potente da citotoxicidade mediada por anticorpos (ADCC – antibody-dependent cell-mediated cytotoxicity), atividade que, in vitro tem demonstrado exercer-se preferencialmente nas células neoplásicas com sobre expressão do HER2, comparativamente com células neoplásicas que não apresentam sobre expressão do HER2⁽¹⁸⁾.

3.1.2 Anticorpos monoclonais conjugados

São ligados a uma partícula radioativa ou a um fármaco usado em quimioterapia, e atuam como veículo destas substâncias, levando-as pela circulação sanguínea diretamente às células tumorais às quais se ligam, libertando as substâncias tóxicas onde elas são mais necessárias e diminuindo, assim, a toxicidade para as células normais.

¹ Em Portugal o alemtuzumab está autorizado com o nome Lemtrada®, com indicação na esclerose múltipla Surto-Remissão, em adultos. Na leucemia linfocítica crónica, o medicamento MabCampath®, contendo alemtuzumab está revogado desde 2012.

² Nome comercial Herceptin®

Quando estão ligados a pequenas partículas radioativas, tomam o nome de anticorpos radiomarcados e o tratamento pode denominar-se imunoradioterapia.

O Ibritumomab tiuxetano³, é um mAb marcado radioativamente com [90Y] (isótopo radioativo de ítrio) e está indicado no tratamento de adultos com Linfoma folicular e Linfoma não - Hodgkin folicular de células B CD20+ refratário ao rituximab. O seu alvo é o antígeno CD20 que se encontra à superfície dos linfócitos B malignos e normais aos quais se liga permitindo que o isótopo ítrio-90 destrua as células através da emissão de partículas β . O modo de ligação é muito restrito sem qualquer reatividade cruzada com outros leucócitos ou outros tipos de tecido humano⁽¹⁹⁾.

Estes anticorpos também podem ser quimiomarcados e tomam o nome de Conjugados anticorpo-fármaco. Neste caso têm ligados a si fármacos potentes utilizados em quimioterapia, que não podem ser usados isoladamente pois causariam demasiados danos às células não tumorais, pelo que têm que ser administrados ligados ao mAb.

Neste grupo temos:

- Brentuximab vedotin⁴, um conjugado anticorpo-fármaco (CAF) constituído por um anticorpo monoclonal direcionado para a proteína CD30 que está ligada de forma covalente ao agente antimicrotúbulo monometil auristatina E (MMAE). Está indicado para o tratamento de adultos com linfoma de Hodgkin, recidivante ou refratário, linfoma anaplásico de células grandes sistémico (LACGs) recidivante ou refratário e linfoma cutâneo de células T (LCCT) CD30+⁽²⁰⁾.

A ligação do CAF à proteína CD30 na superfície celular inicia a internalização do complexo CAF-CD30, que depois transita para o compartimento lisossómico. Dentro da célula, uma espécie ativa exclusivamente definida, a MMAE, é libertada através de clivagem proteolítica. A ligação da MMAE à tubulina desagrega a rede de microtúbulos dentro da célula, induz a paragem do ciclo celular e resulta na morte da célula tumoral por apoptose. No Linfoma de Hodgkin, LACGs e LCCT ocorre a expressão do antígeno de superfície CD30 tornando-a um alvo privilegiado de intervenção terapêutica e justificando a utilização desta terapêutica nestes doentes⁽²⁰⁾.

- Trastuzumab emtansina⁵, é um conjugado anticorpo-fármaco que contém trastuzumab ligado covalentemente a DM1, um inibidor dos microtúbulos, através do ligando tioéter estável MCC. Está indicado no tratamento em monoterapia de doentes adultos com cancro da mama HER2 positivo, localmente avançado irresssecável ou metastizado, uma vez que a conjugação do DM1 ao trastuzumab confere seletividade ao agente citotóxico para células tumorais com sobre expressão de HER2, aumentando desta forma a disponibilidade intracelular de DM1 diretamente para as células neoplásicas.⁽²¹⁾

Após ligação ao HER2, o trastuzumab emtansina sofre internalização mediada pelo recetor e subsequente degradação lisossomal, resultando na libertação de catabolitos

³ Em Portugal está comercializado com o nome Zevalin®

⁴ Comercializado em Portugal com o nome Adcetris®

⁵ Comercializado em Portugal com o nome Kadcylla®

citotóxicos contendo DM1 que se liga à tubulina inibindo a sua polimerização e provocando a paragem das células na fase G2/M do ciclo celular, o que leva à morte celular por apoptose. ⁽²¹⁾

Para além da ação do DM1, o trastuzumab, liga-se ao domínio IV do domínio extracelular do HER2, bem como aos recetores Fcγ e ao complemento C1q. Além disso, inibe a sinalização através da via fosfatidilinositol 3-cinase e medeia a citotoxicidade mediada pela célula dependente do anticorpo em células humanas de cancro da mama que sobre expressam HER2. ⁽²¹⁾

3.1.3 Anticorpos monoclonais biespecíficos

São anticorpos sintetizados a partir de partes de 2 mAbs, o que os torna capazes de se ligarem a duas proteínas diferentes.

Um exemplo deste tipo de anticorpos é o Blinatumomab⁶ que se liga simultaneamente ao recetor CD19 expresso à superfície das células da linhagem B e ao recetor CD3 expresso à superfície das células T. Ao ligar-se a estes dois recetores medeia a formação de uma sinapse citolítica entre a célula T e a célula tumoral, libertando enzimas proteolíticas para eliminação das células alvo em proliferação e em repouso. Blinatumomab está associado a uma regulação positiva temporária das moléculas de adesão celular, da produção de proteínas citolíticas, da libertação de citocinas inflamatórias e da proliferação de células T, resultando na eliminação das células CD19+. ⁽²²⁾

Blinatumomab está indicado em monoterapia para o tratamento de adultos e crianças com leucemia linfoblástica aguda (LLA) de células B precursoras, cromossoma Filadélfia negativo, CD19 positivo, em recaída ou refratária. ⁽²²⁾

3.2. Citocinas

São proteínas produzidas pelos leucócitos que desempenham funções importantes no sistema imunitário, como modeladoras e reguladoras da imunidade inata, e da imunidade específica e também como estimuladoras da proliferação e diferenciação dos precursores hematopoiéticos. ^(1,23,48,49)

No que diz respeito à sua utilização no cancro, desempenham também um papel importante na capacidade de resposta do sistema imunitário ao cancro exercendo um efeito direto anti tumor ou atuando de forma indireta aumentando a resposta imunitária ao tumor. ^(1, 23)

Devido aos seus efeitos sobre o tumor, algumas destas moléculas, são utilizadas no tratamento do cancro: os interferons, nomeadamente o Interferon alfa (INF-α) e as Interleucinas, especialmente a Interleucina 2 (IL-2).

3.2.1. Interferon alfa:

⁶ Em Portugal está disponível como nome Blincyto®

Aumenta a resposta imunitária às células cancerígenas através da ativação das células Natural Killer e das células dendríticas. Atua também diminuindo o crescimento das células cancerígenas, ou promovendo a sua morte, e dos vasos sanguíneos que o tumor necessita para crescer.^(1,24)

Está aprovado em Portugal com o nome Roferon (entre outros) para o tratamento de tricoleucemia, fase crónica da leucemia mieloide crónica (LMC) com cromossoma Filadélfia positivo, Linfoma cutâneo de células T, Linfoma não Hodgkin folicular, Carcinoma avançado de células renais e Doentes com melanoma maligno no estágio II AJCC.⁽²⁵⁾

O interferão alfa produzido em laboratório, demonstrou possuir muitas das atividades das preparações de interferão-alfa natural humano, no entanto o mecanismo fundamental da sua ação tumoral ainda não é conhecido⁽²⁵⁾.

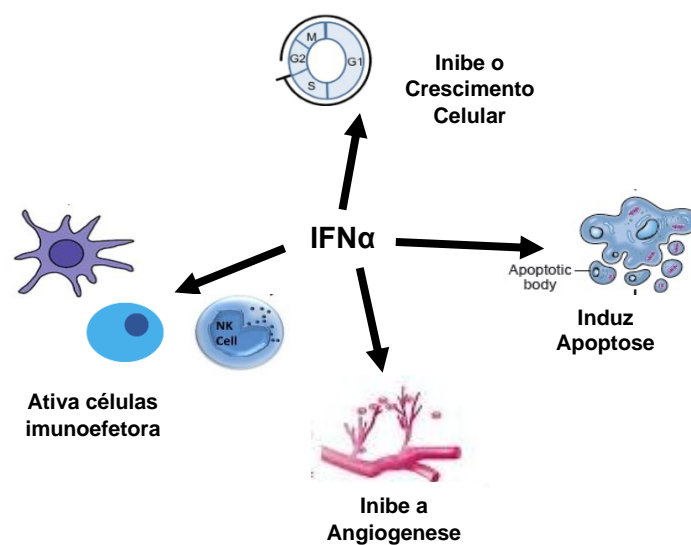


Fig. 7: IFN- α 2 Funções

3.2.2 Interleucina 2:

Estimula a proliferação dos leucócitos, nomeadamente os linfócitos T e B, promove o desenvolvimento e proliferação das células T Killer e as Natural Killer, desencadeando uma resposta imunitária contra o cancro.^(1,24,26)

É um fator importante para a manutenção das células T reguladoras CD4+ e desempenha um papel crítico na diferenciação das células T CD4+ numa variedade de subconjuntos. Pode promover a atividade citotóxica das células T CD8+ e de células NK e modular a diferenciação de células T em resposta ao antígeno, promovendo a diferenciação de células T CD4+ em células T helper-1 (Th1) e T helper-2 (Th2).^(1,24,26)

Também atua como fator de crescimento das células B, que produzem substâncias que atuam sobre as células cancerígenas.^(1,24,26)

Existe uma “versão” produzida em laboratório, por tecnologia de ADN recombinante utilizando uma estirpe de Escherichia coli que contém uma modificação obtida por engenharia genética,

a partir do gene da Interleucina-2 (IL-2) humana. Chama-se aldesleucina⁷, e está aprovada para o tratamento do carcinoma metastizado das células renais.⁽²⁷⁾

A aldesleucina atua como regulador da resposta imunitária, apresentando uma atividade biológica comparável à da IL-2 humana nativa.⁽²⁷⁾

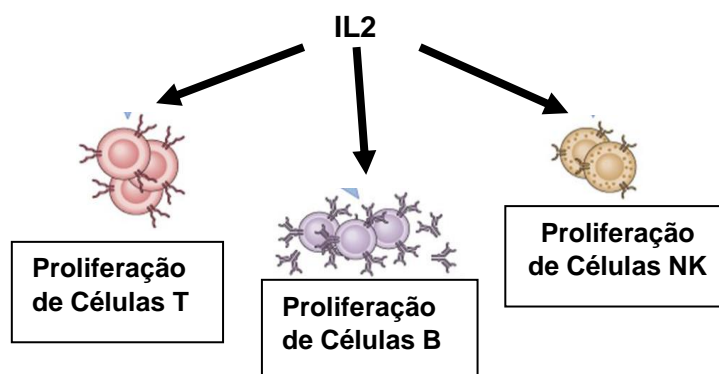


Fig. 8: IL-2 Funções

3.3. Transferência celular adotiva

A transferência celular adotiva (ACT) consiste na utilização de células T, previamente isoladas de acordo com a capacidade de reconhecer um determinado antígeno específico das células tumorais ou que foram geneticamente modificadas para reconhecerem determinadas proteínas que estão presentes nas células tumorais. Estas células, que foram isoladas do sangue periférico do doente (ou de um dador) ou do tumor são, depois de modificadas, expandidas e voltam a ser infundidos no doente.^(28-32,48,49)

O objetivo desta terapêutica é tirar partido das propriedades dos linfócito erradicarem as células tumorais, melhorando as suas capacidades naturais de combate ao cancro e o seu sucesso está dependente de dois fatores: da expressão de antígenos pelas células tumorais e da capacidade de mobilizar um número suficiente de células T efetoras que reconheçam esses antígenos de forma a eliminarem o tumor.⁽²⁸⁻³²⁾

Podemos considerar dois tipos de transferência celular adotiva:⁽²⁸⁻³²⁾

- Transferência adotiva com células T modificadas, como a terapêutica com *Car-T Cells* e *TCR-T Cell*, nas quais ocorre modificação genética
- Transferência adotiva com linfócitos infiltrantes de tumor (TILs), os quais são selecionados de acordo com a capacidade de reconhecer determinado antígeno tumoral

3.3.1. Linfócitos infiltrantes de tumor (TILs)

⁷ Nome comercial: Proleukin está aprovada em Portugal, mas não está comercializado.

São linfócitos que penetraram naturalmente no tumor para exercer a sua função de defesa anti células tumorais. Na sua maioria são células T capazes de reconhecer as células tumorais e estão envolvidas na destruição do tumor. ^(31,32)

São obtidos por biópsia do tumor, o ADN isolado da biópsia do tumor é sequenciado e identificam-se as mutações das células tumorais. Os epítomos mutados são incorporados em células dendríticas autólogas que são colocadas em cultura junto com os infiltrados linfocitários isolados na biópsia. Os linfócitos infiltrantes do tumor que reconhecerem o antígeno são selecionados, expandidos e novamente infundidos no doente. ⁽¹¹⁾

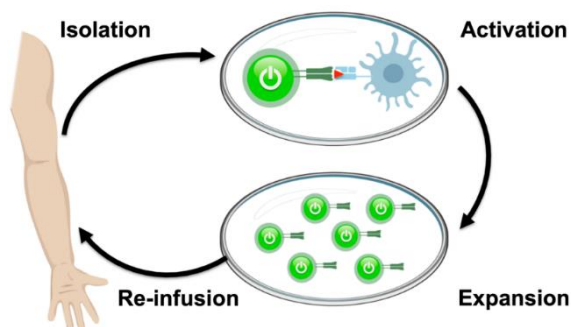


Fig. 9: Tratamento com Tumor-Infiltrating Lymphocyte (TIL)⁽¹¹⁾

A terapêutica com TIL demonstrou ser eficaz em doentes com melanoma metastizado, num estudo efetuado com 93 doentes, 23% (20 doentes) alcançaram a regressão completa do tumor e uma taxa de sobrevivência aos 3 e 5 anos de 100% e 93% respetivamente⁽³³⁾. Apesar de se revelar bastante promissora no tratamento do melanoma, a transposição da terapêutica com TIL para outros tumores, não tem tido tanto sucesso, sendo a maior dificuldade a “recolha” e expansão de linfócitos do tumor, no entanto prosseguem os ensaios clínicos para o tratamento do carcinoma das células renais, onde começa a demonstrar sinais promissores⁽³⁴⁾ e decorrem também ensaios para o tratamento do cancro da mama e do ovário ⁽³⁵⁾

3.3.2. Recetor das células T (TCR T-cell)

O TCR (recetor das células T) é um marcador de superfície típico dos linfócitos T, responsável por reconhecer fragmentos de antígenos ligados ao complexo major de histocompatibilidade (MHC). O seu papel é fundamental na ativação das células T, que se inicia quando o complexo major de histocompatibilidade apresenta péptidos derivados dos antígenos do tumor. ^(28,29,30,31,32)

Esta ativação desencadeia uma série de respostas, nomeadamente a diferenciação, produção de citocinas, regulação do desenvolvimento das células T, etc. Para que as células T iniciem a proliferação, adquiram funções efetoras e possam eventualmente migrar é necessário, para além da ligação ao complexo MHC, um segundo sinal mediado pela ligação do CD28 presente à superfície da célula T à proteína B7 (tal como CD80 ou CD86) presente na célula apresentadora de antígeno (APC). ^(28,29)

A estimulação do TCR também induz a produção de CTLA4, uma molécula específica expressa pelas células T que compete com a CD28 para a ligação à proteína B7, para a qual tem maior afinidade inibindo assim a atividade da célula T e de PD1, outra molécula inibitória que também é expressa à superfície das células T após ativação com o objetivo de controlar as respostas da célula T e assim minimizar o dano para os tecidos normais. ^(28,29)

Estas duas moléculas de superfície são também locais de interação possíveis para regular a atividade das células T, onde vai atuar outro grupo de fármacos utilizados em imunoterapia, que veremos adiante.

A forma como se obtêm as células para esta terapia é similar à dos TILs, com a diferença de que estas não são obtidas do tumor, mas sim do sangue periférico. Depois da colheita, as células são reprogramadas para identificarem mais facilmente as células tumorais e posteriormente são reinfundidas no doente. ⁽¹¹⁾

Existem vários ensaios a decorrer com TCR T-cell, nomeadamente em doentes com melanoma metastizado. ⁽³⁵⁾

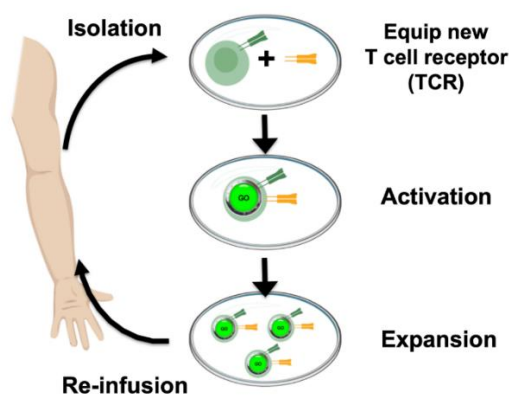


Fig. 10: Tratamento com TCR T-Cell ⁽¹¹⁾

3.3.3. Recetor quimérico de antígeno (CAR T-cell)

CAR T-cell é o nome de um tipo de transferência celular adotiva, no qual as células T são modificadas para lhes ser introduzido um recetor quimérico de antígeno (o acrónimo CAR vem do inglês “chimeric antigen receptor”). ^(29,30,31)

O tratamento consiste na colheita de sangue periférico com o intuito de proceder à separação das células T que são posteriormente manipuladas em laboratório para lhes ser adicionado um recetor quimérico de antígeno o que as torna células com especificidade para localizar e destruir as células que expressem à sua superfície os antígenos para os quais foram modificadas. O passo seguinte é reinfundir estas células no doente para que se multipliquem e possam localizar e destruir as células cancerígenas. ⁽¹⁾

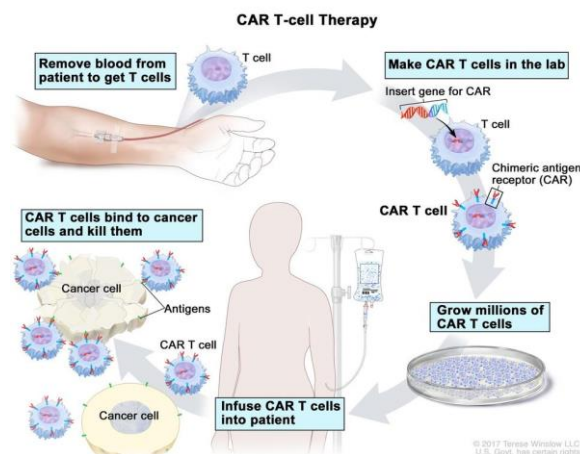


Fig. 11: Tratamento com células CAR T ⁽¹⁾

A terapêutica com CAR T-cell está indicada para leucemias e linfomas, não se aplicando ainda a tumores sólidos uma vez que as células T modificadas têm como alvo moléculas que expressam à sua superfície CD19, um antígeno expresso pelos linfócitos B nos seus diversos estádios de maturação.

Atualmente estão aprovados os seguintes tratamentos:

- Tisagenlecleucel⁸ está indicado no tratamento de doentes pediátricos e jovens adultos até aos 25 anos de idade com leucemia linfoblástica aguda (LLA) de células B refratária, em recidiva após transplante ou em segunda recidiva ou posterior e doentes adultos com linfoma difuso de grandes células B (LDGCB) recidivante ou refratário após duas ou mais linhas de terapêutica sistémica.⁽³⁶⁾
- Axicabtagene ciloleucel⁹ está aprovado no tratamento de doentes adultos com linfoma difuso de grandes células B (LDGCB) e linfoma de grandes células B primário do mediastino (LGCBBPM), recidivantes ou refratários após duas ou mais linhas de terapêutica.⁽³⁷⁾

Ambos os medicamentos são uma terapêutica oncológica imunocelular, autóloga, que envolve a reprogramação das células T do doente com um transgene que codifica para um recetor antígeno quimérico para identificar e eliminar células que expressem CD19. Após a interação das células T CAR anti-CD19 com as células-alvo que expressem o CD19, os domínios co estimuladores CD3-zeta e CD137 (no caso do Tisagenlecleucel) e CD28 (no caso do Axicabtagene ciloleucel) ativam cascatas de sinalização que levam à ativação e proliferação de células T, à aquisição de funções efetoras e à secreção de citocinas e quimiocinas inflamatórias. Esta sequência de acontecimentos causa a apoptose e necrose das células-alvo com expressão de CD19.^(36,37)

Nos tratamentos com Células CAR T o doente faz um pré tratamento de quimioterapia de depleção linfocitária, cujo objetivo é, não só reduzir a contagem das restantes células imunitárias de forma a permitir que estas células T modificadas que vão ser administradas se

⁸ Nome comercial: Kymriah®, está aprovada em Portugal, desde Agosto de 2018, mas não está comercializado.

⁹ Nome comercial: Yescarta®, está aprovada em Portugal, desde Agosto de 2018, mas não está comercializado.

multipliquem e atuem sobre as células tumorais de forma mais eficiente, mas também para permitir o controlo da doença no período entre o isolamento das células T a sua infusão. Esta depleção leucocitária e a multiplicação das células T CAR podem levar a reações adversas graves, sendo as mais significativas e mais frequentemente observadas a síndrome de libertação de citocinas (93%), encefalopatias (58%) e infeções (36%).⁽³⁷⁾

3.4. Inibidores de checkpoint

Uma característica muito importante do sistema imunitário é a sua capacidade de distinguir as células normais das que se apresentam “diferentes” de forma a que ataque as estranhas e não danifique as normais. Para isto existem checkpoints, moléculas que estão presentes em determinadas células do sistema imunitário e cuja função é exatamente proteger os tecidos de danos quando as células imunitárias respondem a células ou substâncias estranhas, o que é conseguido por *downregulation* da ativação da célula T ou das funções efectoras. ^(1,13,29,31,38,48)

As moléculas de superfície CTLA-4 e PD-1 são checkpoints importantes das células T, por vezes as células tumorais adaptam-se e utilizam estes checkpoints como forma de evitar o ataque do sistema imunitário.⁽¹⁾

3.4.1. Inibidores do CTLA-4

CTLA-4, foi o primeiro recetor de checkpoint a ser utilizado clinicamente. É expresso apenas nas células T onde regula a sua ativação. ⁽²⁹⁾

O CTLA-4 neutraliza a atividade do recetor co-estimulador de células T, CD28, o que significa que mesmo que a célula apresentadora de antígenos (APC) reconheça e se ligue à Célula T, via CD28, se a célula APC também se ligar ao recetor CTLA-4, a célula T não é ativada e não atua sobre as células tumorais. ^(13,29,31,32,38)

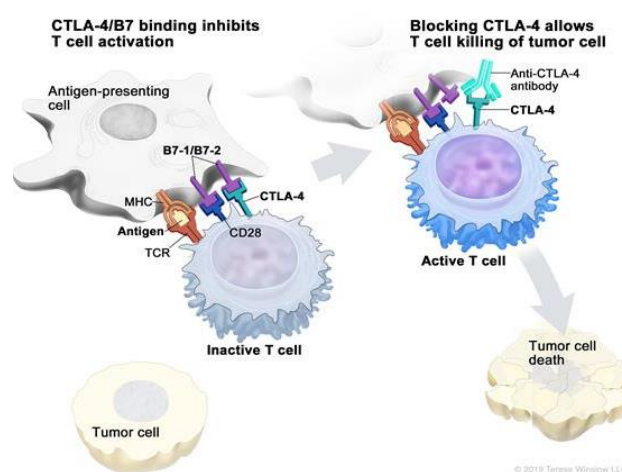


Fig. 12: Inibidores do CTLA-4⁽¹⁾

Os medicamentos que bloqueiam o CTLA-4, impedem a ligação das células APC, que só se liga ao CD28 e desta forma a célula T é ativada e pode atuar sobre as células tumorais (cf.

Fig.12). É o caso do **Ipilimumab**¹⁰, um anticorpo monoclonal anti-CTLA-4 totalmente humano, produzido em laboratório por tecnologia de ADN recombinante, que está indicado no tratamento do melanoma avançado, em monoterapia ou em associação com o nivolumab e no tratamento do carcinoma das células renais, também em associação com o nivolumab.⁽³⁹⁾

3.4.2. Inibidores do PD-1 e PD-L1

O PD-1 tem como principal função limitar a atividade das células T nos tecidos periféricos, durante a resposta inflamatória a uma infeção e limitar a autoimunidade, a sua expressão é induzida quando a célula T é ativada. (13,29,31,32,38)

Quando o PD-L1, se liga à proteína PD-1 há uma diminuição da proliferação e da toxicidade das células T e um aumento da sua suscetibilidade para a apoptose. Em condições fisiológicas esta ligação impede a ação excessiva das células T controlando os danos nos tecidos saudáveis durante a inflamação e impede a ocorrência de autoimunidade. As células tumorais muitas vezes aproveitam esta interação como forma de contornar a resposta imunitária anti tumor. (13,29,31,32)

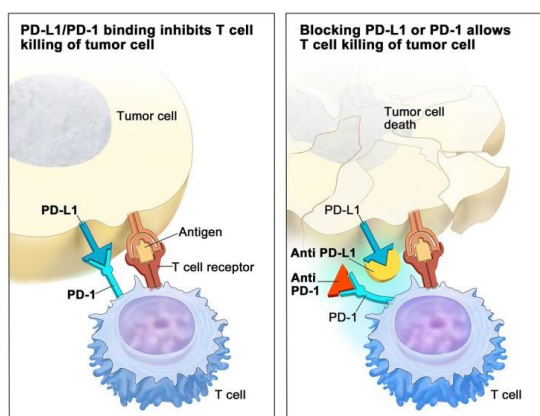


Fig. 13: Inibidores do PD-1/PD-L1⁽¹⁾

Os medicamentos que bloqueiam o PD-1 expresso pelas células T ou o PD-L1 expresso pelas células tumorais, impedem que esta ligação ocorra, o que permite às células T desempenharem as suas funções e destruírem as células tumorais (Cf. Fig.13).⁽¹⁾

Existem atualmente 4 medicamentos aprovados que atuam nesta via de ativação das células T:

- Pembrolizumab¹¹ e Nivolumab¹², anticorpos monoclonais que atuam como antirrecetores bloqueando o recetor PD-1 e estão indicados no tratamento de melanoma avançado, no cancro do pulmão de não-pequenas células, no carcinoma de células renais, no linfoma de Hodgkin, no carcinoma de células escamosas da cabeça e pescoço e no carcinoma urotelial. Ligam-se aos recetores PD-1 e bloqueiam as interações com PD-L1 e PD-L2, que são expressos em células apresentadoras de antígenos e podem ser expressos por células tumorais ou outras células no

¹⁰ Comercializado em Portugal com o nome Yervoy®

¹¹ Comercializado em Portugal com o nome Keytruda®

¹² Comercializado em Portugal com o nome Opdivo®

microambiente tumoral, resultando na inibição da proliferação de células T e secreção de citocina. Há assim uma potenciação das respostas das células T, incluindo respostas antitumorais.^(40,41)

- Atezolizumab¹³ e Avelumab¹⁴, anticorpos monoclonais anti PD-L1, o atezolizumab está indicado no tratamento de doentes adultos com carcinoma urotelial localmente avançado ou metastático, cancro do pulmão de não-pequenas células e no cancro da mama triplo negativo, em combinação com paclitaxel⁽⁴²⁾ e o avelumab está indicado em monoterapia para o tratamento de doentes adultos com carcinoma de células de Merkel metastático⁽⁴³⁾. Atuam ligando-se ao PD-L1 e bloqueando a interação entre o PD-L1 e os recetores de morte celular programada 1 (PD-1) e B7.1, o que remove os efeitos supressores de PD-L1 sobre as células T CD8+ citotóxicas, restabelecendo as respostas antitumorais sem induzir a citotoxicidade. O atezolizumab poupa a interação PD-1/PD-L2 permitindo a continuação do sinal inibitório mediado por esta ligação. O avelumab demonstrou induzir a lise direta das células tumorais mediada pelas células natural killer (NK), através de citotoxicidade mediada por células, dependente de anticorpos (ADCC).^(42,43)

3.5. Vacinas

Sendo alguns tumores causados por vírus, por exemplo o papiloma vírus humano que está na origem do cancro cervical, vaginal, vulvar e anal e o vírus da hepatite B que causa infeções que podem levar ao cancro do fígado, foram aprovadas vacinas para prevenção dessas infeções que, consequentemente, previnem os respetivos tumores nomeadamente, o cancro do colo do útero e o cancro do fígado. Estas, são vacinas tradicionais que têm como alvo vírus que podem causar determinados tumores, mas não atacam diretamente as células tumorais. A sua aplicação no âmbito da terapia do cancro, restringe-se aos tumores que se sabem serem causados por infeções.^(1,13,28,29,48)

Mas, a maioria dos tumores não são causados por infeções, e para estes há já algumas vacinas, que são vacinas de tratamento, uma vez que são administradas a doentes que já têm cancro. Atuam ativando o sistema imunitário para reconhecer e atacar certos marcadores, ou antígenos, presentes nas células tumorais.^(1,29)

Estas vacinas dirigidas ao tratamento de tumores são produzidas em laboratório, com base em proteínas isoladas ou células inteiras, de uma das seguintes formas:

- a partir de células do tumor, são personalizadas de forma a desencadear uma resposta imunológica a determinados marcadores ou proteínas expressas pelo tumor do doente
- a partir de antígenos expressos pelas células de determinado tipo de tumor, não são específicas do doente mas são características do tipo de tumor e manifestam-se sempre que há proliferação de um determinado tipo de células tumorais. Estas vacinas desencadeiam uma resposta imunológica em qualquer doente que tenha um tumor que expressa aquele antígeno.

¹³ Comercializado em Portugal com o nome Tecentriq®

¹⁴Nome comercial: Bavencio®, está aprovado em Portugal desde Setembro de 2017 mas não está comercializado

- a partir de células dendríticas do sistema imunitário do doente. Estas vacinas estimulam o Sistema imunitário a responder a determinado antigénio que só está presente, ou está maioritariamente presente, nas células tumorais. ^(1,29)

Existe já uma vacina feita a partir de células dendríticas, Sipuleucel T, com o nome comercial Provenge®, foi aprovado para o tratamento do cancro da próstata metastizado resistente à castração, assintomático ou minimamente sintomático (não visceral), em doentes adultos do sexo masculino para quem a quimioterapia ainda não está clinicamente indicada, mas está revogado desde 2015.⁽⁴⁴⁾

Para esta vacina, as células retiradas do doente são expostas a substâncias químicas (em laboratório) transformando-se em células dendríticas. São também expostas à fosfatase ácida prostática, uma proteína que desencadeia uma resposta imunitária contra as células da próstata. As células dendríticas são depois reinfundidas no doente e vão desencadear uma resposta imunitária contra as células do tumor (Cancro da próstata).

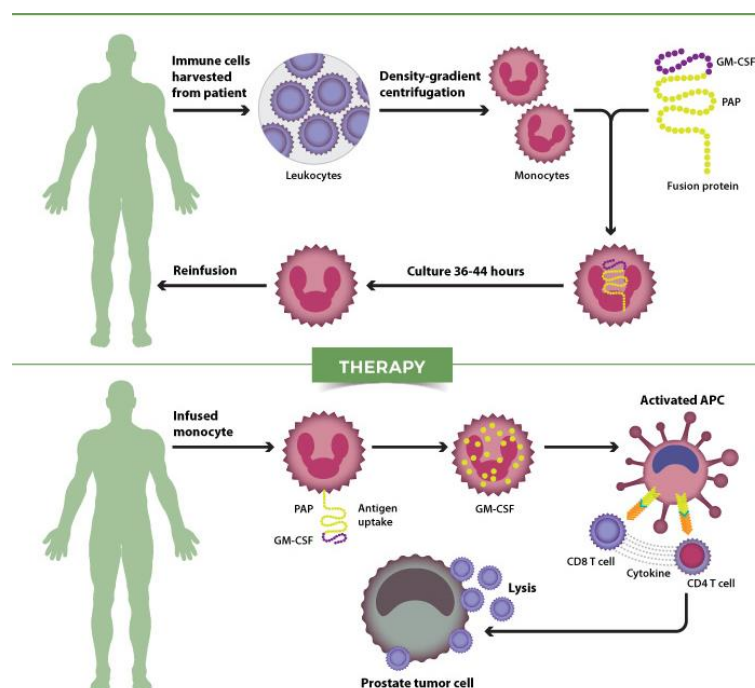


Fig. 14: Vacina de células dendríticas (Sipuleucel T) – Produção e tratamento ⁽⁴⁵⁾

3.6. Imunoterapia com vírus oncolíticos

Usa um vírus oncolítico, modificado, não patogénico, que infeta diretamente as células tumorais desencadeando a sua morte e, simultaneamente ativa células do sistema imunitário (como células dendríticas e células T) para as eliminarem, sem danificar as células normais do doente. ^(1,13,29,48)

Foram testados vários agentes patogénicos e, atualmente está aprovado uma terapêutica com um vírus oncolítico, denominada talimogene laherparepvec (T-VEC), cujo nome comercial é Imlygic®¹⁵. Tem por base o vírus Herpes simplex tipo1, que infeta quer as células tumorais

¹⁵ Em Portugal está aprovado mas não está comercializado.

quer as células normais, mas estas têm a capacidade de o destruir, ao passo que as tumorais não. O Vírus é injetado diretamente no tumor e ao efetuar cópias de si próprio leva à destruição das células tumorais, que rebentam e morrem. Ao rebentar, as cópias do vírus que se encontram dentro das células tumorais são libertadas o que desencadeia uma resposta imunitária contra as células tumorais por todo o organismo. ^(1,29)

O Talimogene laherparepvec é atenuado, produzido em células Vero através de tecnologia de ADN recombinante e resulta da deleção funcional de 2 genes (ICP34.5 e ICP47) e da inserção de uma sequência codificada para o fator estimulador de colónias de granulócitos-macrófagos (GM-CSF). ⁽⁴⁶⁾

Está indicado para o tratamento de adultos com melanoma não ressecável com metástases locais ou à distância (Estadio IIIB, IIIC e IVM1a), que não ósseas, cerebrais, pulmonares ou outras viscerais. ⁽⁴⁶⁾

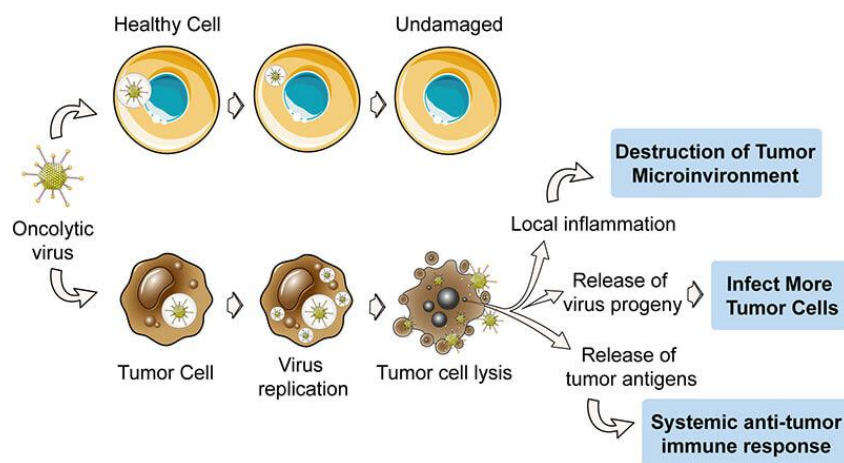


Fig. 15: Terapia com vírus oncolíticos ⁽⁴⁷⁾

3.7. Terapêuticas combinadas

Para além de todos os grupos terapêuticos que vimos ao longo desta monografia, a imunoterapia do cancro não se esgota na administração ao doente destas substâncias isoladamente, de facto, o mais comum é a terapêutica do cancro ser efetuada em associação de duas ou mais imunoterapias, de imunoterapia e quimioterapia ou imunoterapia e radioterapia de dois ou mais fármacos de grupos que não de imunoterapia. ⁽⁴⁷⁻⁴⁹⁾

Estão já aprovadas associações de inibidores de Checkpoint, nomeadamente ipilimumab em associação com nivolumab para o tratamento do melanoma avançado (irressecável ou metastático) em adultos ⁽³⁹⁾; de pembrolizumab com carboplatina e com paclitaxel ou nab-paclitaxel para o tratamento em primeira linha do cancro do pulmão de não pequenas células escamoso metastático em adultos e com axitinib para o tratamento em primeira linha de carcinoma de células renais (CCR) avançado em adultos. ⁽⁴⁰⁾

Também os anticorpos monoclonais como o trastuzumab, se utilizam em associação, nomeadamente com em associação com paclitaxel ou docetaxel, no tratamento de doentes com neoplasia da mama metastizada HER2 positivo ou, ainda, em associação com um inibidor da aromatase, no tratamento de doentes pós-menopáusicas.⁽¹⁸⁾

Existem ainda inúmeros ensaios clínicos a decorrer com as mais variadas associações para os mais variados tipos de cancro.

V. CONCLUSÕES E DESAFIOS PARA O FUTURO

Todos os anos a *American Society of Clinical Oncology* (ASCO), publica o relatório dos avanços clínicos no tratamento do cancro. Nos últimos 2 anos esses avanços foram no âmbito da imunoterapia e, em 2018, a terapêutica com células T com recetor quimérico de antígeno (CAR T) foi distinguida como o maior avanço no tratamento desta doença.

De facto, tive oportunidade de verificar, ao longo da realização desta monografia, que a introdução da imunoterapia no tratamento do cancro, independentemente da ocorrência de efeitos adversos e de não estar indicado ou não funcionar em todos os doentes, trouxe, pela primeira vez, a esperança de sobrevivência a longo prazo para muitos doentes para os quais o prognóstico era, anteriormente, muito pouco favorável.

Muito se evoluiu desde as toxinas de Coley até aos dias de hoje.

A descoberta e utilização das citocinas nos anos 70-80, com especial destaque para o interferão alfa “IFN- α ” e interleucina 2 “IL-2” que mantém ainda hoje a indicação para o tratamento do melanoma metastático; a produção e utilização de anticorpos monoclonais; os ensaios com linfócitos infiltrantes de tumor; a utilização de inibidores de Checkpoint e de Células CAR T, estes últimos verdadeiras esperanças no tratamento do cancro.

Mas há ainda, espaço para progredir e melhorar.

No que diz respeito à utilização de anticorpos, a associação entre si ou mesmo com diferentes grupos de fármacos, de forma a permitir uma melhor adequação da terapêutica a cada tipo de cancro, e também uma melhor adequação das doses e duração do tratamento, uma vez que ao contrário de outras terapêuticas a imunoterapia mantém a atividade mesmo depois de interrompido o tratamento devido à “memória” das células imunológicas.

Alargar a utilização das células CAR T aos tumores sólidos, uma vez que para já estão apenas indicadas para tumores hematológicos, adequar as doses e frequência de administração, de forma a melhor controlar a ocorrência da síndrome de libertação de citocinas que muitas vezes compromete o alargamento desta terapêutica tão promissora a doentes imunologicamente mais frágeis.

Melhorar também o rastreio de doenças tumorais e apostar no desenvolvimento de marcadores tumorais mais específicos que permitam um melhor e mais precoce diagnóstico, e consequentemente uma intervenção mais imediata que, como sabemos é fundamental para o sucesso da terapêutica.

O cancro é uma doença com base genética, mas multifatorial, e só atuando sobre todos os fatores conseguiremos uma vantagem que nos permita chegar à cura ou pelo menos dilatar o mais possível os períodos de remissão e melhorar a qualidade de vida para os doentes. A imunoterapia foi certamente uma grande mais valia no controlo desta doença.

BIBLIOGRAFIA

1. National Cancer Institute at the National Institutes of Health. Bethesda MD, USA [acesso em 29 de junho de 2019]. Disponível em <https://www.cancer.gov>
2. CUF Instituto de Oncologia, José de Melo Saúde. Portugal [acesso em 29 de junho de 2019]. Disponível em <https://www.saudecuf.pt/oncologia>
3. Canadian Cancer Society. Toronto, Ontario, Canada [acesso em 29 de junho de 2019]. Disponível em <https://www.cancer.ca/en/cancer-information/cancer>
4. Instituto Português de Oncologia de Lisboa Francisco Gentil. Lisboa, Portugal [acesso em 29 de junho de 2019]. Disponível em <http://www.ipolisboa.min-saude.pt>
5. The Global Cancer Observatory, International Agency for Research on Cancer. Lyon, France [acesso em 29 de junho de 2019]. Disponível em <https://gco.iarc.fr/today/data/factsheets/populations/620-portugal-fact-sheets.pdf>
6. Australian Institute of Health and Welfare, Australian Government. Canberra/Sidney, Australia [acesso em 29 de junho de 2019]. Disponível em <https://www.aihw.gov.au>
7. Magnus Medi. Mumbai, India [acesso em 29 de junho de 2019]. Disponível em <https://www.magnusmedi.com/blog/types-of-cancer-treatment>
8. American Cancer Society. Atlanta GA, USA [acesso em 29 de junho de 2019]. Disponível em <https://www.cancer.org>
9. Cancro Online, MSD. Kenilworth NJ, USA [acesso em 29 de Junho 2019]. Disponível em <https://www.cancro-online.pt>
10. Toda a Matéria. Brasil [acesso em 29 de Junho de 2019]. Disponível em <https://www.todamateria.com.br>
11. Cancer Research Institute. New York NY, USA [acesso em 29 de Junho de 2019]. Disponível em <https://www.cancerresearch.org>
12. Weber, Jeffrey S. Immuno-oncology Comes of Age. Seminars in Oncology, Vol 41, No5, Suppl5, October 2014, ppS1-S2
13. Papaioannou et al. Harnessing the immune system to improve cancer therapy. Ann Transl Med 2016;4(14):261
14. Cancer.Net, American Society of Clinical Oncology (ASCO). Alexandria VA, USA [acesso em 30 de julho de 2019]. Disponível em <https://www.cancer.net>
15. Hongming Zhang, Jibei Chen. Current status and future directions of cancer immunotherapy. Journal of Cancer 2018; 9(10): 1773-1781
16. RCM do medicamento Mabcampath. [acesso em 30 de julho de 2019]. Disponível em https://www.ema.europa.eu/en/documents/product-information/mabcampath-epar-product-information_pt
17. RCM do medicamento Lemtrada. [acesso em 30 de julho de 2019]. Disponível em https://www.ema.europa.eu/en/documents/product-information/lemtrada-epar-product-information_pt
18. RCM do medicamento Herceptin. [acesso em 30 de julho de 2019]. Disponível em https://www.ema.europa.eu/en/documents/product-information/herceptin-epar-product-information_pt
19. RCM do medicamento Zevalin. [acesso em 30 de julho de 2019]. Disponível em https://www.ema.europa.eu/en/documents/product-information/zevalin-epar-product-information_pt
20. RCM do medicamento Adcetris. [acesso em 30 de julho de 2019]. Disponível em https://www.ema.europa.eu/en/documents/product-information/adcetris-epar-product-information_pt
21. RCM do medicamento Kadcylla. [acesso em 30 de julho de 2019]. Disponível em https://www.ema.europa.eu/en/documents/product-information/kadcyla-epar-product-information_pt

22. RCM do medicamento Blincyto. [acesso em 30 de julho de 2019]. Disponível em https://www.ema.europa.eu/en/documents/product-information/blincyto-epar-product-information_pt
23. Disis, Mary L. Mechanism of Action of Immunotherapy. Seminars in Oncology, Vol 41 No5, Suppl5, October 2014, ppS3-S13
24. WebMD. Atlanta GA, USA [acesso em 30 de julho de 2019]. Disponível em <https://www.webmd.com>
25. RCM do medicamento Roferon-A. [acesso em 30 de julho de 2019]. Disponível em <https://www.infarmed.pt/infomed>
26. Jiang, Tao et al. Role of IL-2 in cancer immunotherapy. Oncoimmunology 2016, Vol. 5, No. 6
27. RCM do medicamento Proleukin. [acesso em 30 de julho de 2019]. Disponível em <https://www.infarmed.pt/infomed>
28. Sharma, P. et al. Novel cancer immunotherapy agents with survival benefit: recent successes and next steps. Nat Rev Cancer; 11(11): 805–812
29. Farkona, S. et al. Cancer immunotherapy: the beginning of the end of cancer? BMC Medicine (2016) 14:73
30. Bonini, C. and Mondini, A. Adoptive T-cell therapy for cancer: The era of engineered T cells. Eur. J. Immunol. 2015. 45: 2457–2469
31. Houot, R. et al. T-cell-based Immunotherapy: Adoptive Cell Transfer and Checkpoint Inhibition. Cancer Immunol Res; 3(10) October 2015
32. Kruger et al. Advances in cancer immunotherapy 2019 – latest trends. Journal of Experimental & Clinical Cancer Research (2019) 38:268
33. Rosenbrg et al. Durable Complete Responses in Heavily Pretreated Patients with Metastatic Melanoma Using T Cell Transfer Immunotherapy. Clin Cancer Res. 2011 July 1; 17(13): 4550–4557
34. V Baldan et al. Efficient and reproducible generation of tumour-infiltrating lymphocytes for renal cell carcinoma. British Journal of Cancer (2015) 112, 1510–1518
35. Clinical Trials, US National Library of Medicine. National Institute of Health, USA [acesso em 30 de julho de 2019]. Disponível em <https://clinicaltrials.gov>
36. RCM do medicamento Kymriah. [acesso em 30 de julho de 2019]. Disponível em https://www.ema.europa.eu/en/documents/product-information/kymriah-epar-product-information_pt.pdf
37. RCM do medicamento Yescarta. [acesso em 30 de julho de 2019]. Disponível em https://www.ema.europa.eu/en/documents/product-information/yescarta-epar-product-information_pt.pdf
38. Pardoll, Drew M. The blockade of immune checkpoints in cancer immunotherapy. Nat Rev Cancer.; 12(4): 252–264.
39. RCM do medicamento Yervoy. [acesso em 30 de julho de 2019]. Disponível em https://www.ema.europa.eu/en/documents/product-information/yervoy-epar-product-information_pt.pdf
40. RCM do medicamento Keytruda. [acesso em 30 de julho de 2019]. Disponível em https://www.ema.europa.eu/en/documents/product-information/keytruda-epar-product-information_pt.pdf
41. RCM do medicamento Opdivo. [acesso em 30 de julho de 2019]. Disponível em https://www.ema.europa.eu/en/documents/product-information/opdivo-epar-product-information_pt.pdf
42. RCM do medicamento Tecentric. [acesso em 30 de julho de 2019]. Disponível em https://www.ema.europa.eu/en/documents/product-information/tecentiq-epar-product-information_pt.pdf
43. RCM do medicamento Bavencio. [acesso em 30 de julho de 2019]. Disponível em https://www.ema.europa.eu/en/documents/product-information/bavencio-epar-product-information_pt.pdf
44. RCM do medicamento Provenge. [acesso em 30 de julho de 2019]. Disponível em https://www.ema.europa.eu/en/documents/product-information/provenge-epar-product-information_pt.pdf
45. Healio. Thorofare NJ, USA. [acesso em 29 de junho de 2019]. Disponível em <https://www.healio.com>

46. RCM do medicamento Imlygic [acesso em 30 de julho de 2019]. Disponível em https://www.ema.europa.eu/en/documents/product-information/imlygic-epar-product-information_pt.pdf
47. Rini, B. Future Approaches in Immunotherapy. Seminars in Oncology, Vol 41, No5, Suppl5, October2014, ppS30-S40
48. Aulas da disciplina de Imunofarmacologia 2018/2019 lecionada pelo Professor Doutor João Rocha
49. Aulas da disciplina de Farmacoterapia em Oncologia 2018/2019 lecionada pelo Professor Doutor Rogério Gaspar, Professor Doutor Bruno Sepodes e Professor Doutor João Rocha